



Please Click here to view the drawing

Korean FullDoc. English Fulltext

(19)



KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11)Publication number: 1020040091505 A
(43)Date of publication of application: 28.10.2004

(21)Application number: 1020030026864
(22)Date of filing: 22.04.2003

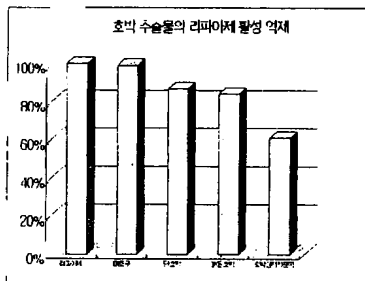
(71)Applicant: BIOLAB CO., LTD.
(72)Inventor: KIM, SEOK GI
LEE, HONG SEOK
YOON, SEUNG WON

(51)Int. Cl. A61K 35/78

(54) METHOD FOR PRODUCING INHIBITOR AGAINST PANCREATIC LIPASE FROM PUMPKIN(CUCURBITA SPP.) AND COMPOSITION CONTAINING THE SAME FOR INHIBITING LIPID UPTAKE

(57) Abstract:

PURPOSE: Provided are a method for producing an inhibitor against pancreatic lipase from pumpkin(Cucurbita spp.) and a composition containing the same for inhibiting lipid uptake. The extract of pumpkin directly inhibits the decomposition of lipid in the small intestine and improves obesity without diet. Therefore, it is used for the prevention and treatment of obesity, or hyperlipemia. CONSTITUTION: A method for producing an inhibitor against pancreatic lipase from pumpkin(Cucurbita spp.) comprises the steps of: extracting active ingredients from pumpkin(Cucurbita spp.) with hot water; inhibiting pancreatic lipase using the extract; and fractioning the extract to give active ingredients which have excellent pancreatic lipase inhibiting effect.



copyright KIPO 2005

Legal Status

(19)대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)

(51) . Int. Cl.⁷
A61K 35/78

(11) 공개번호 10-2004-0091505
(43) 공개일자 2004년10월28일

(21) 출원번호 10-2003-0026864
(22) 출원일자 2003년04월22일

(71) 출원인 (주)바이오랩
서울 송파구 문정동 67-8 101호

(72) 발명자 이홍석
서울특별시송파구문정동현대아파트101-607

윤승원
서울특별시용산구이촌1동이촌아파트109-105

김석기
울산광역시울주군두동면구미리당산172번지

심사청구 : 있음

(54) 호박 추출물을 이용한 췌장 리파아제의 저해 방법 및 이를이용한 지방의 체내 흡수 억제용 조성물

요약

본 발명은 호박를 이용한 췌장 리파아제에 대한 저해제의 생산방법 및 이를 이용한 지방의 체내 흡수 억제용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 호박으로부터 열수 를 이용하여 유효 성분을 추출하는 단계; 추출물을 사용하여 지방 분해효소인 췌장 리파아제에 대한 저해 단계; 추출물 중 리파아제에 대한 저해효과가 높은 유효성분을 분획하는 단계를 포함하는, 호박 추출물을 이용한 췌장 리파아제 저해방법 및 상기 방법에 의해 획득된 추출물 유효성분을 이용하여 생체 내 지방 분해효소인 리파아제의 활성을 저해하는 지방의 체내 흡수 억제용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 호박 추출물은 소장 내에서 지방의 분해를 직접적으로 억제하므로 음식물 섭취의 제한 없이 비만 개선을 위한 다이어트 원료로서 비만의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도

도 2

색인어

호박, 비만, 지방, 췌장 리파아제, 효소저해

명세서

도면의 간단한 설명

도 1 은 본 발명에 따라 열수 또는 유기용매를 이용하여 호박 추출물의 활성성분을 분리하는 것을 나타낸 것이며

도 2 는 본 발명에 따라 제조된 호박 추출물에 의해 돼지 췌장 리파아제의 활성이 직접적으로 억제되는 것을 나타낸 것이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 호박을 이용한 체장 리파아제에 대한 저해제의 생산방법 및 이를 이용한 지방의 체내 흡수 억제용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 호박으로부터 열수 또는 유기용매를 이용하여 유효 성분을 추출하는 단계; 추출물을 사용하여 지방 분해효소인 체장 리파아제에 대한 저해 단계; 추출물 중 리파아제에 대한 저해효과가 높은 유효성분을 분획하는 단계를 포함하는, 호박 추출물을 이용한 체장 리파아제 저해방법 및 상기 방법에 의해 획득된 추출물 유효성분을 이용하여 생체 내 지방 분해효소인 리파아제의 활성을 저해하는 지방의 체내 흡수 억제용 조성물에 관한 것이다.

일반적으로 섭취한 음식물의 소화는 주로 체장에서 분비되는 트립시노겐, 키모트립시노겐, 카르복시 펩티다아제 등의 단백질 분해 효소, 체장 리파아제, 스테핀 등의 지질 분해 효소, 체장 리파아제, 아밀롭신 등의 지방 분해 효소 아밀라아제, 말타아제 등의 탄수화물 분해효소들에 의하여 일어나 용모세포에서 흡수되어 암죽관과 혈관을 통해서 흡수된 영양분이 체내로 이동하게 된다.

이러한 소장에서의 지방의 소화 및 흡수에 가장 중요한 역할을 하는 것이 바로 리파아제이다. 리파아제는 음식으로부터 섭취된 지방을 저분자인 지방산과 글리세롤로 분해하여 소장의 암죽관 통해 흡수될 수 있는 형태로 만들어주는 지방분해효소로서 지방의 체내 흡수에 중요한 역할을 하는 효소이다.

따라서, 최근 식생활 패턴의 서구화에 따라 지방의 섭취량이 증가 추세에 있는 실정을 고려할때 국소적으로 소장 내에서 지방의 흡수를 저해할 수 있는 방법의 개발이 요구되고 있다. 이러한 추세에 맞추어 개발된 제니칼(약제명 올리스타트) 등과 같은 리파아제 저해제 등이 종종 비만환자의 치료에 사용되고 있는데 지방 섭취를 줄임으로써 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추고 고혈압 및 당뇨병 개선에도 도움을 준다. 그러나 부작용의 위험이 있어 제니칼의 경우 부작용으로 치료를 중단하는 비율은 약 6%로 복용초기에 집중적으로 나타나는 지방변과 복부팽만감, 방귀, 잦은 배변, 복통, 지용성 비타민인 A, D, E, K의 섭취 방해, 담석증 등의 증상이 나타날 수 있다.

한편, 이러한 비만 치료용 의약품 외에 비만의 예방 및 개선을 위한 여러 연구가 활발히 되고 있으며 녹차를 비롯한 각종 허브 추출물 등이 체내에 축적된 지방의 분해를 돕는 것으로 많이 사용되고 있다.

이에 본 발명자들은 지방의 소화 흡수에서 중요한 역할을 하는 효소인 체장 리파아제를 억제할 수 있는 물질을 개발하고자 안전성이 입증된 식품 원료인 호박으로부터 천연물질을 추출하고 이를 분리하여 생체 내 지방의 소화 흡수를 직접적으로 억제함을 확인하여 비만 및 고지혈증의 개선 및 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 호박으로부터 지방 분해효소인 체장 리파아제에 대한 효소활성을 억제하는 물질을 생산하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 상기 호박 추출물을 포함하는 지방 흡수 억제용 식이 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 호박을 열수 또는 유기용매를 이용하여 지방분해효소 억제 물질을 추출, 분리하여 생산하는 방법을 제공한다.

또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 호박 추출물을 유효성분으로 함유하는 지방 흡수 억제용 약학 조성물을 제공한다.

아울러, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 호박 추출물을 유효성분으로 함유하는 식품 및 음료 조성물을 제공한다.

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 췌장 리파아제를 억제하는 호박 추출물을 생산하는 방법을 제공한다.

상기 생산방법은

- 1) 호박에서 열수 또는 유기용매를 이용하여 추출물을 생산하는 단계; 및
- 2) 상기 추출물로부터 지방분해효소를 억제하는 물질을 분리하는 단계를 포함한다.

이하 상기 단계를 보다 구체적으로 설명한다.

본 발명의 바람직한 실시예로서 효소저해 활성 확인용 리파아제로 시그마사의 리파아제(EC 3.1.1.3 Type II Lot No .61K1201)를 이용하였다.

본 발명에서 지방분해효소로 사용된 췌장 리파아제는 돼지 뿐만 아니라 랫트, 마우스, 기니아피, 토끼 또는 사람으로부터 분리될 수 있으며, 이들 효소 단백질을 암호화하는 유전자를 포함하는 재조합 미생물에 발현된 것을 분리하여 사용할 수 있고, 화학적으로 합성된 것을 사용할 수도 있다.

상기의 췌장 리파아제를 지방분해효소로 이용하여 호박 추출물의 저해효과를 측정할 수 있다.

단계 1)은 호박을 사용하여 열수 또는 유기용매를 이용하여 추출물을 생산하는 단계로서, 추출물을 지방분해효소 저해제로 이용하기 위해서는 생체에 유해하지 않아야 하며 이를 위하여 호박으로부터 열수로 추출하는 경우가 가장 바람직하다.

이와 같이 분리·정제된 호박추출물은 췌장 리파아제 활성을 효과적으로 억제함을 확인하였다 (도 2 참조).

또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 호박추출물을 유효성분으로 함유하는 지방 흡수 억제용 약학 조성물을 제공한다.

본 발명에 따라 생산된 췌장 리파아제를 억제하는 천연 추출물은 생체 내에서 지방의 분해를 직접적으로 억제하여 체내 지방의 소화 흡수를 감소시키므로 상기 호박추출물을 유효성분으로 하는 약학 조성물은 음식물 섭취의 제한 없이 과도한 지방의 흡수에 기인한 질환들, 예를 들어, 비만, 고지혈증 등의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

본 발명의 조성물을 이용하여 통상적인 방법에 따라 약학 제형을 제조할 수 있다. 제형은 정제, 알약, 분말, 새세이, 엘릭서, 현탁액, 에멀전, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 및 경질 젤라틴 캡셀, 멸균 주사용액, 멸균 포장 분말 등의 형태일 수 있다.

적당한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 검, 알긴산 염, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제형은 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제형화할 수 있다.

본 발명의 약학 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥내 또는 근육내를 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 사람의 경우 호박추출물의 통상적인 1일 투여량은 5 내지 30 mg/kg 체중, 바람직하게는 10 내지 20 mg/kg 체중의 범위일 수 있고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다.

그러나, 활성 성분의 실제 투여량은 치료할 질환, 선택된 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 증상의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 하며, 따라서 상기 투여량은 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.

아울러, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 호박추출물을 유효성분으로 함유하는 식품 및 음료 조성물을 제공한다.

본 발명의 식품 및 음료 조성물은 체내에서 지방의 분해를 억제하므로 비만 억제, 혈중 지질량 조절 등을 통하여 건강을 유지 및 향상시킬 수 있다.

본 발명의 호박 추출물은 또한 비만 개선을 위한 다이어트 원료로서, 또는 과도한 지방의 흡수에 기인한 질환, 예를 들어 고지혈증 및 고혈압 등의 예방 및 치료 효과를 나타낼 목적으로 식품 또는 음료에 첨가제 또는 식품 보조제로서 혼입될 수 있다. 상기 식품 또는 음료로는, 육류; 야채 주스 (예를 들어, 당근 주스 및 토마토 주스) 및 과일 주스 (예를 들어, 오렌지 주스, 포도 주스, 파인애플 주스, 사과 주스 및 바나나 주스); 초콜렛; 스낵류; 과자류; 피자; 빵, 케익, 크래커, 쿠키, 비스킷, 누들 등과 같이 곡물 분말로 만들어진 식품류; 껌류; 우유, 치즈, 요구르트 및 아이스크림과 같은 유제품; 스프; 육즙; 페이스트, 케첩 및 소스; 차; 알콜성 음료류; 탄산 음료류; 비타민 복합체; 및 다양한 건강 식품류 등이 있다. 이 경우, 식품 또는 음료 중 호박추출물의 함량은 0.05 내지 0.5 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 0.2 중량%의 범위일 수 있다.

이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 호박으로부터 체장 리파아제 저해제의 추출 및 저해활성 확인

리파아제 저해제의 분리를 위하여 단호박과 늙은호박 각각 10 kg에 20리터의 정제수를 가한 후 95℃에서 4시간 추출하여 호박의 열수 추출액을 회수하였다. 추출 후 원심분리 및 여과를 통하여 찌꺼기를 제거한 다음 액상 성분을 동결 건조 또는 감압하에서 건조하여 분말형태로 만들어 냉동보관 하였으며 체장 리파아제의 활성 억제 실험을 하였다. 추출된 호박 성분이 실제로 체장 리파아제의 활성을 억제할 수 있는지의 여부를 확인하기 위해서 체장 리파아제의 저해활성을 측정하였다.

리파아제의 저해활성을 조사하기 위하여 기질로 지방 에밀션을 첨가하여 효소 반응을 수행하였다. 기질은 트리올레인 80mg, 레시틴 10mg, 타우로콜릭산 5mg을 0.1M TES 완충액(pH 7.0) 9ml에 녹여서 준비하였다. 반응액은 기질 150 μ l, 0.1M TES 완충액(pH 7.0), 효소 100 μ l(200 unit/ml), 저해용액을 포함하며 반응용량은 0.4 ml로 37℃에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 100℃에서 효소활성을 정지시켰으며 생성된 지방산 농도는 지방산 정량 키트를 이용하여 정량하였다. 효소반응 시에 호박 추출물을 100-500 μ g/ml의 농도로 100 μ l 첨가하여 효소의 활성저해 정도를 측정하였다. 체장 리파아제에 대한 호박 추출물의 활성저해를 비교하기 위해 효소를 첨가하지 않은 대조군과 호박 추출물 미첨가군, 체장 리파아제만 첨가한 군 등을 이용하였다.

그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따라 제조된 호박 추출물에 의해 체장 리파아제의 활성이 저해됨을 확인하였다.

<실시예 2> 호박 추출물의 순수분리

늙은호박 열수 추출물의 저해활성을 확인 후 저해제의 이화학적 특성을 규명하고 구조 분석을 위하여 순수분리를 시작하였다.

늙은호박 열수 추출액의 25% 부피의 에틸아세테이트를 가한 후 4시간 이상 교반하여 열수추출액과 충분히 섞이게 하고 12시간 방치하여 층분리가 일어난 뒤에 분액여두를 이용하여 유기용매 층을 따로 분리하였다. 수층과 유기용매 층의 저해활성을 확인한 결과 유기용매층에서 저해 활성이 확인 되었다. 분리된 유기용매층은 여과하여 침전물을 제거하고 감압 농축하여 다시 소량의 에틸아세테이트에 녹인 다음 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하였다. 실리카겔 500g을 에틸아세테이트에 현탁시킨 후 감압하여 기체를 제거하고 glass column에 충전하였다. 소량의 에틸아세테이트에 용해된 호박 추출물의 저해성분을 glass column에 충전된 실리카겔 상단에 가하여 크로마토그래피를 수행하였다. 크로마토그래피 용출조건은 에틸아세테이트와 메탄올의 단계별 혼합액으로 용출하였다. 에틸아세테이트 100%, 에틸아세테이트 99 : MeOH 1, 에틸아세테이트 95 : MeOH 5, 에틸아세테이트 90 : MeOH 10, 에틸아세테이트 80 : MeOH 20, 에틸아세테이트 50 : MeOH 50, MeOH 100% 의 용 매 조건으로 용출하였다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 용출된 분획으로 저해활성을 확인한 결과 MeOH 20-50% 함유된 용매조건에서 저해활성을 확인할 수 있었다. 이렇게 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 통하여 호박에서 추출한 리파아제 저해활성물질을 분리하였다(도 1).

호박의 열수추출물에서 분리한 리파아제 저해 활성 물질은 저해활성의 감소없이 유효성분을 분리하였으므로 비만 및 고지혈증 질환의 개선 및 치료용으로 사용시 호박의 다른 성분에 의한 과잉 영양공급이나 체중 증가 등의 부작용이 없이 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 효과

상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따라 호박으로부터 추출된 체장 리파아제에 대한 효소 활성 억제제는 천연 물

질을 이용하여 안전하게 대량으로 생산이 가능하여 매우 경제적인 뿐만 아니라 다른 필수적인 무기이온 및 단백질 등의 흡수 저해 없이 지방의 흡수만을 효과적으로 저해함으로써 비만 및 고지혈증 질환의 개선 및 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

호박으로부터 췌장 리파아제에 대한 활성 억제 물질을 열수추출하고 유기용매와 크로마토그래피법을 이용하여 저해 활성 물질을 분리하는 방법.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 추출물을 이용하여 췌장 리파아제에 대한 활성을 억제하는 방법.

청구항 3.

제 2항에 있어서, 췌장 리파아제 단백질이 돼지 소장, 랫트, 마우스, 기니아피그, 토끼 또는 사람으로부터 분리되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4.

제 2항에 있어서, 췌장 리파아제 단백질이 재조합 미생물에 의해서 발현된 것이거나 화학적으로 합성된 것임을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.

제 1항의 방법에 의해 생산된 호박 추출물을 유효성분으로 함유하는, 지방 흡수 억제용 약학 조성물.

청구항 6.

제 4항에 있어서, 비만 또는 고지혈증 관련 질환의 예방 및 치료에 사용되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 7.

제 1항의 방법에 의해 생산된 호박 추출물을 유효성분으로 하는 식품 및 음료 조성물.

청구항 8.

제 6항에 있어서, 비만 방지 또는 개선에 사용되는 것을 특징으로 하는 식품 및 음료 조성물.

도면

도면1

호박 열수추출 (95-110℃)

열수 추출액의 에틸아세테이트추출

에틸아세테이트 여과 및 농축

실리카겔 컬럼크로마토그래피

용출용매 조건 (Ethylacetate:MeOH 100:0, 99:1, 90:10, 80:20, 50:50, 0:100)

도면2

호박 추출물의 리파아제 활성 억제

